

ANDROESTERILIDAD EN GIRASOL Y COMPORTAMIENTO DE LÍNEAS ENDOCRIADAS A LA PODREDUMBRE BLANCA DE CAPÍTULOS

L. CROGNALE¹; F. CASTAÑO^{1,4*}; J. RÉ²; R. RODRÍGUEZ^{3,4} y M. ECHEVERRÍA^{1,4}

Recibido: 02/08/05

Aceptado: 10/03/06

RESUMEN

En las localidades bonaerenses de Balcarce y Camet se evaluaron los citoplasmas: 1) androfertil y androesteriles -CMS *PET-1*, CMS *PET-2*, CMS *GIG-1*, CMS *PEF-1*-, introducidos en la línea HA 89, y 2) androfertil y el androesteril CMS *PET-1*, incorporados en otras cinco líneas de girasol, a las inoculaciones de *Sclerotinia sclerotiorum* en capítulos. Se cuantificó la incidencia (INC) y el período de incubación relativo (PIR) de la enfermedad. No hubo efecto de los citoplasmas androesteriles introducidos en HA 89. En las seis líneas con CMS *PET-1*, la INC fue inferior que la producida por sus líneas isoplasmicas androfértiles; el PIR fue sin embargo similar. Estos resultados sugerirían la posibilidad de utilizar otra fuente de androesterilidad, diferente a la tradicional CMS *PET-1* utilizada hasta ahora, en la producción de semilla híbrida a fin de disminuir la uniformidad citoplásmica en los híbridos comerciales de girasol y, en consecuencia, el riesgo de epifitias relacionadas a enfermedades de herencia materna.

Palabras clave. Girasol, herencia materna, uniformidad citoplásmica, resistencia, *Sclerotinia sclerotiorum*.

MALE STERILITY IN SUNFLOWER AND INBRED LINE PERFORMANCE TO WHITE ROT ON CAPITULA

SUMMARY

In Balcarce and Camet we evaluated the male fertile and male sterile cytoplasm CMS *PET-1*, CMS *PET-2*, CMS *GIG-1* and CMS *PEF-1* introgressed to the HA 89 sunflower inbred line, and the male fertile and male sterile CMS *PET-1*, incorporated at other five lines, to *Sclerotinia sclerotiorum* inoculations on capitula. The incidence (INC) and the relative incubation period (PIR) were quantified. Male sterile cytoplasm in HA 89 did not show any difference on disease resistance. The INC scored in the six CMS *PET-1* inbred lines was lower than the isoplasmic male lines; the PIR was however similar. Results would suggest the possibility to use other sterility sources different from the traditional CMS *PET-1*, used at present in the development of hybrid seeds, to reduce the cytoplasmic uniformity in sunflower cultivars and their disease risks related to maternal inheritance.

Key words. Cytoplasmic uniformity, disease resistance, maternal inheritance, *Sclerotinia sclerotiorum*, sunflower.

¹Facultad de Ciencias Agrarias (FCA)-Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP).

²Monsanto Argentina S.A.I.C., Camino Provincial N°7 (Alt. RN 2, Km 391), Pueblo Camet, 7612 Mar del Plata.

Estación Experimental Agropecuaria (EEA)-Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

⁴Unidad Integrada Balcarce (UIB), CC 276, B 7620 BKL Balcarce.

*a quien la correspondencia debe ser dirigida (Área de Genética y Mejoramiento Genético Vegetal):
fcastano@balcarce.inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

La Argentina ocupa el primer lugar como productor y exportador de granos y aceite de girasol (*Helianthus annuus* L.) (USDA, 2005). En la región sur y sudeste de la provincia de Buenos Aires el cultivo de dicha oleaginosa se ve afectado principalmente por los ataques del hongo *Sclerotinia sclerotiorum*, quien le produce la podredumbre blanca del capítulo lo cual conduce a pérdidas directas o indirectas ya sea por la caída parcial o total de capítulos, o bien por la presencia de esclerocios en los granos cosechados (Agüero *et al.*, 1997). Por tal motivo, la creación de híbridos con buen comportamiento frente a esta enfermedad es un objetivo de importancia en los programas de desarrollo de cultivares de esta oleaginosa.

Los productores argentinos de girasol cultivan híbridos simples. Para maximizar la eficiencia de obtención de semilla F1, se utiliza el sistema de androesterilidad citoplasmática (CMS) en las líneas utilizadas como hembras en los cruzamientos. A partir del cruzamiento interespecífico entre *H. petiolaris* y *H. annuus*, la primera fuente de androesterilidad citoplasmática (CMS *PET-1*) fue hallada en el INRA de Francia por Leclercq (1969). Este sistema, está ampliamente difundido ya que asegura que la semilla cosechada sobre capítulos de una línea androesteril sea híbrida.

En la actualidad, más del 90% de los híbridos comerciales de girasol son producidos sobre una línea endocriada a la cual se le ha introducido el sistema CMS *PET-1* mediante retrocruzas lo que provoca, en consecuencia, una altísima uniformidad citoplasmática en los híbridos comerciales.

En las plantas se sabe que el citoplasma juega un rol importante en algunos caracteres de importancia agronómica, como por ejemplo el contenido de aceite en girasol (Fick, 1975) y el peso de 1.000 granos en trigo (Millet y Pinthus, 1980). Se lo relaciona también con el bajo nivel de resistencia a ciertas enfermedades, por ejemplo, las manchas necróticas en *Capsicum* spp. producidas por el virus X de la papa (Magaich *et al.*, 1968) y el tizón sureño de la espiga de maíz producido por *Helminthosporium maydis* (Mercado y Lantican, 1975). Con respecto a esta última, todos los híbridos de maíz obtenidos a partir de la utilización de una línea endocriada que posea el citoplasma androesteril "T" (Texas) fueron susceptibles a esta enfermedad; la gran uniformidad desde el punto de vista citoplasmático fue la causa de esta epifitía en los años 70' en los Estados Unidos.

Diferentes sistemas CMS han sido hallados en el girasol y numerosos estudios han sido llevados a cabo para evaluar su utilidad en la producción comercial de híbridos a los efectos de disminuir aquella uniformidad citoplasmática en dichos cultivares (Millery Fick, 1997).

En la UIB, Echeverría *et al.* (1999) evaluaron distintos citoplasmas respecto de la incidencia y el índice de incubación de la podredumbre blanca de capítulos luego de las inoculaciones realizadas en un sólo experimento; no se tiene, sin embargo, conocimiento del comportamiento de los mismos en distintos ambientes. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de citoplasmas que provocan androesterilidad en girasol en dos localidades frente a las inoculaciones de *S. sclerotiorum* en capítulos.

MATERIALES Y METODOS

Las líneas endocriadas SD, CX, GU (originadas en el INRA de Francia), Impira 8 y U1 (obtenidas en la UIB) y HA89 (del USDA) fueron utilizadas en sus versiones: 1) androesteriles (CMS *PET-1*), conocidas como líneas A, y 2) androfértiles (con citoplasma normal proveniente de *H. annuus*), conocidas como líneas B o mantenedoras de la androesterilidad. La línea A produce una descendencia 100% androesteril al ser polinizada por la línea B.

Se contó, además, con otras tres fuentes de androesterilidad citoplasmática, *PEF-1*, *GIG-1* y *PET-2*, las cuales fueron introducidas a la línea HA 89. Dos híbridos comerciales: NK Punta y DK G 100, de buen y regular comportamiento a las inoculaciones de *S. sclerotiorum* en capítulos, respectivamente, fueron asimismo utilizados como testigos.

Se realizaron dos ensayos, uno en la localidad de Camet y el otro en Balcarce. En ambos sitios experimentales, las líneas fueron distribuidas de acuerdo a un diseño de bloques completos aleatorizados en parcela dividida y con dos repeticiones. En ese sentido, las líneas endocriadas comprendieron las parcelas principales, mientras que los tipos de líneas (androesteriles o androfértiles), las subparcelas. En cada subparcela se contabilizaron alrededor de 15 plantas a lo largo de un surco de 4 m de largo. Es necesario remarcar que en el caso de la línea HA 89, la parcela principal contó con cinco subparcelas correspondientes a las líneas isoplasmáticas de HA 89: B y CMS *PET-1*, *PET-2*, *PEF-1* y *GIG-1*.

Los híbridos utilizados como testigos fueron sembrados en las adyacencias del experimento, en forma no alea-

torizada y en dos épocas con un intervalo de 7 días, a fin de tener un largo período de floración en dichos cultivares.

Los esclerocios fueron cosechados en Camet y Balcarce de plantas de girasol infectadas naturalmente por *S. sclerotiorum*. Al año siguiente, las ascosporas fueron obtenidas de acuerdo a Castaño y Rodríguez (1997). Cada sitio experimental utilizó, por lo tanto, su propio inóculo. Para la inoculación se utilizó una suspensión acuosa de ascosporas, la que se asperjó sobre los capítulos cuando las plantas se encontraban en el estadio de desarrollo R5.2 (Schneider y Miller, 1981) o su equivalente F3.2 (Cetiom, 1992).

En la UIB las inoculaciones se realizaron según el protocolo francés (Tourvieille y Vear, 1984): los capítulos recibieron aproximadamente 25.000 ascosporas. Luego, las inflorescencias fueron cubiertas inmediatamente con bolsas de papel Kraft. El experimento fue regado dos veces por semana con regadores a presión hasta la madurez del cultivo. En Camet, en cambio, cada capítulo recibió aproximadamente 15.000 ascosporas y no fueron cubiertos con bolsas de papel; el riego se realizó a partir de un equipo de microaspersores que tienen la particularidad de asperjar gotas muy pequeñas, a una periodicidad de aplicación inversamente proporcional a la temperatura y humedad relativa ambiental.

A los 20 días después de la inoculación, en cada localidad, se comenzó a evaluar la presencia de la enfermedad; a tal efecto la fecha de aparición de los primeros síntomas fue registrada. Dos observaciones semanales fueron efectuadas hasta la madurez del cultivo.

Dos de los componentes de la resistencia parcial del girasol a la podredumbre del capítulo (Castaño *et al.*, 1993)

fueron cuantificados: Incidencia (INC) que mide la proporción de capítulos inoculados con síntomas, y el Período de incubación relativo (PIR) que se define como el cociente entre el número de días que tardaron las líneas en presentar los síntomas en sus capítulos (período de incubación) y el número de días promedio de los híbridos comerciales, utilizados como testigos, inoculados el mismo día.

Para los análisis estadísticos, los valores de incidencia fueron transformados en la función arco seno $\sqrt{\%}$. El test de homogeneidad de varianzas de Bartlett, el análisis de varianza combinado en dos localidades y el cálculo de las diferencias mínimas significativas fueron posteriormente realizados. La asociación entre variables se verificó mediante los coeficientes de correlación lineal y de Spearman. Estos análisis se efectuaron de acuerdo a Steel y Torrie (1988) y se utilizó el paquete MSTATC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Comportamiento de las líneas endocriadas

Efecto del citoplasma en la línea HA 89

Se analizaron los datos de las variables evaluadas, INC y PIR, a fin de valorar el comportamiento de las distintas líneas isoplásmicas de HA 89 en las localidades de Camet y Balcarce. En el Cuadro 1 se

CUADRO 1. Valores promedio de Incidencia (%) y Período de incubación relativo (en cursiva) en plantas de distintas líneas isoplásmicas de HA 89, evaluadas en Camet y Balcarce.

	Camet		Balcarce		Medias	
Tipo de línea y citoplasma						
Androfertil						
HA 89 H. annuus	98	0,82	83	0,81	91	0,82
Androesteril						
HA 89 CMS PET-2	98	0,93	91	0,67	95	0,80
CMS GIG-1	100	0,78	79	0,71	90	0,75
CMS PEF-1	100	0,69	81	0,87	91	0,78
CMS PET-1	95	0,90	65	0,96	80	0,93
Media	98	0,83	79	0,80	89	0,82
Media localidad	98	0,82	80	0,80		
Media general		89		0,81		
CV (%)		[13]		10		

[]: Resultado obtenido del análisis de los datos transformados en arco seno $\sqrt{\%}$.

muestran los promedios obtenidos, para esas dos variables.

Las medias generales indicaron que, por un lado, el 89% de las plantas inoculadas se enfermaron y que, por el otro, los primeros síntomas en los capítulos de la línea HA89 se visualizaron antes que en el promedio de los testigos utilizados, dado que el valor de PIR fue inferior a la unidad (0,81).

Los CV tuvieron valores que variaron de 13% al 10% para INC y PIR, respectivamente; dichos coeficientes se encuentran dentro del rango de valores estimados en distintas experiencias, realizadas por nuestro equipo, en las cuales las infecciones de *S. sclerotiorum* en capítulos estaban involucradas (Álvarez *et al.*, 1999; Favere, 2000; Godoy, 2001, Russi *et al.*, 2004).

El análisis de varianza combinado mostró efecto de localidad ($p \leq 0,001$) cuando la variable analizada fue INC. Las plantas con diferentes citoplasmas mostraron una mayor proporción de capítulos enfermos en Camet (98%) que en Balcarce (80%). La literatura indica que las condiciones ambientales imperantes en los experimentos, por ejemplo, una mayor frecuencia de riego (como en nuestro experimento), estarían más asociadas a valores altos de INC (Serre *et al.*, 2004), que a la utilización de diferentes aislamientos del hongo (Castaño *et al.*, 2001b). En Camet, la mayor humedad habría favorecido la penetración del patógeno en el capítulo y, en consecuencia, a la proporción de capítulos enfermos.

No hubo efecto significativo del citoplasma para las dos variables. Las plantas de la línea HA 89 B androfétil y las de la línea HA 89 androestériles (CMS *PET-2*, CMS *GIG-1* y CMS *PEF-1*) mostraron valores de INC y PIR similares a aquéllos obtenidos en las plantas de la línea HA 89 CMS *PET-1*.

El efecto de la interacción citoplasma-localidad fue nulo para INC, pero significativo para PIR. La fecha de aparición de los primeros síntomas en los distintos materiales dependió, por lo tanto, de la localidad en donde se realizó el experimento.

En consecuencia, se realizaron los análisis de varianza para cada localidad. Los mismos no mostraron diferencias entre citoplasmas para el PIR. El hecho de que la interacción citoplasma-localidad haya sido significativa en el análisis combinado sugiere un comportamiento relativo diferente. En este sentido el cálculo del coeficiente de correlación de rangos de Spearman ($r_s = -0,26$), no significativo, con-

firmó la presencia de una interacción cruzada; las plantas con distintos citoplasmas estuvieron clasificadas en diferente orden, de acuerdo a su comportamiento, en cada ambiente de evaluación. Se puede destacar que, por un lado, la línea HA 89 CMS *PET-2* mostró el valor mínimo de PIR en Balcarce (0,67) y el máximo (0,93) en Camet y, por el otro, la línea HA 89 CMS *PEF-1* mostró el valor mínimo en Camet (0,69) y el segundo valor en orden decreciente de PIR (0,87) en Balcarce. Este resultado sugeriría la necesidad de realizar evaluaciones en diferentes localidades a fin de detectar los citoplasmas más adaptados en cada una.

Efecto del genotipo en líneas con el mismo citoplasma

El nivel de resistencia de las seis líneas fue valorado y en el Cuadro 2 se presentan los resultados promedios obtenidos en Camet y Balcarce para INC y PIR.

El 82% de los capítulos inoculados presentaron podredumbre blanca. Los primeros síntomas se presentaron antes que en el promedio de los testigos; en efecto, la media general (0,94) fue inferior a la unidad. Los CV tuvieron valores de 24% y 16% para los experimentos donde las variables medidas fueron INC y PIR, respectivamente.

El análisis de varianza combinado para INC mostró efectos altamente significativos ($p \leq 0,001$) de la localidad; la media experimental en Camet (92%) fue superior a la de Balcarce (72%). Para PIR, en cambio, las medias de Camet (0,93) y Balcarce (0,96) fueron estadísticamente similares.

Las líneas exhibieron efectos significativos ($p \leq 0,01$) para INC y PIR. En cambio, no hubo interacción línea-localidad. Si bien existieron respuestas diferenciales de líneas, su comportamiento relativo fue similar en Camet y Balcarce.

La fuente de variación tipo de línea presentó un efecto significativo ($p \leq 0,05$) para INC; las líneas androfétils mostraron una mayor proporción de plantas con capítulos enfermos (89%) que las líneas androestériles CMS *PET-1* (75%). Dichas diferencias no se manifestaron empero para el PIR.

Hubo efecto significativo ($p \leq 0,05$) de la interacción tipo de línea-localidad para INC; las líneas androfétils y CMS *PET-1* presentaron, según la localidad, un número relativo de plantas enfermas diferente.

CUADRO 2. Valores promedio de Incidencia (%) y Período de incubación relativo (en cursiva) en plantas de seis líneas androfértiles y androestériles CMS *PET-1* evaluadas en Camet y Balcarce.

Líneas	Camet				Balcarce				Medias	
	Tipo de línea									
	Androfertil		Androesteril		Androfertil		Androesteril			
GU	80	0,76	100	0,98	97	0,70	88	0,98	91	0,84
CX	100	1,03	100	0,96	93	0,91	69	0,97	91	0,94
Impira 8	100	0,75	100	0,84	75	0,77	65	0,88	85	0,82
U1	94	0,96	89	0,97	88	0,82	51	0,83	81	0,90
SD	78	1,12	70	1,04	81	1,52	9	1,35	60	1,26
HA 89	98	0,82	95	0,90	83	0,81	65	0,96	85	0,87
Medias:										
General									82	0,94
Tipo de líneas	92	0,91	92	0,95	86	0,92	58	1,00		
Androfertil				89		0,91				
Androesteril				75		0,98				
Localidad		92	0,93				72	0,96		
CV (%)				[24]		16				
Dms (p<0.05)				[13]		0,18				

[]: Resultados obtenidos a partir del análisis de los datos transformados en arco seno $\sqrt{\%}$.

Este resultado es debido a que los valores de las plantas con citoplasma normal y CMS *PET-1* fueron similares en Camet (92%), pero en Balcarce las de citoplasma normal tuvieron un valor (86%) superior a aquellas CMS *PET-1* (58%). Cuando el PIR fue considerado, no hubo efecto de interacción.

El hecho de que las líneas CMS-potenciales parentales de híbridos- hayan modificado su INC de acuerdo a la localidad acrecentaría la probabilidad de que su descendencia híbrida también la modifique. Lo anterior sugiere la necesidad de evaluar la INC en híbridos en distintos ambientes, tal lo manifestado por Godoy *et al.* (2005).

La literatura cita que, por un lado, las plantas de las líneas androestériles se diferencian de las androfértiles en el tipo de citoplasma que le provoca una escasa o nula producción de néctar y la ausencia absoluta de polen (Fick, 1978) y que, por el otro, la producción de polen y/o néctar no se encuentra

relacionada con el comportamiento de la podredumbre del capítulo (Vear *et al.*, 1990).

Por ello en la evaluación de líneas endocriadas, parentales de futuros híbridos, a *S. sclerotiorum* en capítulos se utiliza a veces la versión androesteril de las mismas (J. Ré, comunicación personal). En nuestro trabajo, las diferencias detectadas en el tipo de líneas sugiere que habría una subestimación del comportamiento de la línea androfertil, predicho a partir de su versión androesteril, respecto de INC; no habría variación en cambio en la estimación del PIR.

En este sentido pareciera que el CMS *PET-1* poseería ciertos factores genéticos derivados de la especie silvestre *H. petiolaris*, independientes de aquellos relacionados a la producción nectarífera y polínica, que ayudan a controlar la penetración del patógeno en el capítulo y en consecuencia la INC. En las líneas androfértiles estos factores, en cam-

bio, estarían ausentes o, en su defecto, en una frecuencia más baja.

En Balcarce, cinco de las líneas androestériles mostraron valores inferiores de INC respecto a Camet; mientras que en la línea restante (SD CMS) la proporción de capítulos enfermos fue 61 % inferior; la baja INC (9%) de dicho genotipo en Balcarce habría, por lo tanto, acentuado la disminución del valor promedio de las líneas androestériles en esa localidad. Lo anterior permitió, por un lado, la detección de comportamientos disímiles entre las líneas androfértiles y androestériles y, por el otro, la aparición de una interacción no cruzada y significativa entre tipo de línea-localidad.

El buen comportamiento de la línea SD androfertil (B) es remarcado en trabajos previos realizados por Castaño (1992), Castaño *et al.* (1989, 1993, 2001a) y Godoy (2001). Sin embargo, hasta el presente nunca se habían presentado resultados respecto de la versión androesteril de la misma.

Finalmente, el análisis de varianza combinado mostró la ausencia de efectos significativos para la interacción línea-tipo de línea, así como para la interacción línea-tipo de línea-localidad para las dos variables medidas. Esto sugiere que, por un lado, el comportamiento relativo del tipo línea cualquiera sea el citoplasma involucrado (normal o CMS *PET-1*) fue similar en las 6 líneas utilizadas y que, por el otro, dicho comportamiento fue independiente de la localidad donde se realizó el experimento.

La comparación múltiple de medias fue realizada a efectos de clasificar las líneas de acuerdo a su comportamiento. Las diferencias mínimas significativas fueron de 13 y 0,18 para INC y PIR, respectivamente (Cuadro 2). A partir de dichos valores fue posible clasificar a las líneas en dos grupos. En el primero, denominado G1, se agruparon las líneas con valores similares al genotipo con mayor INC (GU) o aquél con menor PIR (Impira 8). Todas las líneas evaluadas están en G1, excepto SD quien por poseer el valor mínimo de INC (60%) y el máximo de PIR (1,26) conforma por sí sola G2, el grupo de mayor nivel de resistencia en este experimento.

B. Relación entre variables

Las plantas de las diferentes líneas isoplásmicas de HA 89, exhibieron una mayor INC en Camet, res-

pecto de Balcarce (Cuadro 1); para PIR no se detectaron en cambio diferencias significativas.

En el experimento realizado en Camet los capítulos recibieron una suspensión ascospórica que contenía, aproximadamente, el 60% de los propágulos con los que fueron asperjados los mismos materiales en Balcarce (15.000 y 25.000 ascosporas, respectivamente); la más alta concentración utilizada en la UIB no favoreció por lo tanto la aparición de la enfermedad en esta última localidad.

Lo anterior sugeriría que la concentración ascospórica es independiente de la aparición de la enfermedad; esto concuerda con resultados presentados en Francia (Tourvieille y Vear, 1984) donde híbridos comerciales de girasol inoculados con diferente concentración de ascosporas tampoco se diferenciaban en la proporción de capítulos enfermos.

Cabe recordar que en Camet se utilizó un equipo de microaspersores que al regar mantuvo una alta humedad ambiental en experimento. En Balcarce, por el contrario, el nivel de humedad fue alto sólo por cortos períodos. Se sabe que la humedad ambiental favorece al patógeno facilitando la infección, la colonización y el crecimiento de su micelio (Agrios, 1998).

En ese sentido se ha observado que en híbridos con un nivel aceptable de resistencia, las condiciones de mayor humedad relativa favorecieron la aparición de la podredumbre blanca (Pereyra *et al.*, 1991; Serre *et al.*, 2004), lo cual avala el razonamiento previo respecto a que la humedad favorece al patógeno en su interacción con el hospedero. Lo anterior, sugiere que el nivel de resistencia en los materiales no es todavía suficiente para las situaciones en las cuales el patógeno es favorecido.

Respecto del comportamiento de la línea endocriada HA 89, los análisis no detectaron respuestas diferenciales entre los cinco citoplasmas evaluados (normal y CMS *PET-1*, CMS *PET-2*, CMS *GIG-1* y CMS *PEF-1*) por INC y PIR; el nivel de resistencia de HA 89, con citoplasmas diferentes a *PET-1*, sería similar al de este mismo genotipo tradicional.

Lo anterior concuerda con resultados provenientes del INRA, Francia, los cuales mostraron que cruzamientos isoplásmicos, obtenidos a partir de la utilización de distintas fuente de androesterilidad, tuvieron un nivel de resistencia similar al de los mismos genotipos híbridos pero obtenidos sobre líneas hembras CMS *PET-1* (Promosol, 1989).

En nuestro experimento el comportamiento relativo de los diferentes citoplasmas introgresados en la línea endocriada HA 89, de acuerdo al PIR, dependió de la localidad de evaluación (Cuadro 1). Sin embargo, el coeficiente de correlación de rangos calculado ($r_s = -0,26$) sugirió que esa modificación en el comportamiento no representó un cambio significativo en el orden en el que los citoplasmas fueron clasificados según su PIR en Camet y Balcarce. Este tipo de interacción, no cruzada, fue también detectada en la evaluación del comportamiento de 47 cruzamientos híbridos a la podredumbre de capítulos en tres ambientes de la Argentina (Godoy *et al.*, 2005). En este sentido, los distintos citoplasmas androestériles en la línea HA 89 tuvieron un efecto similar sobre la resistencia a *S. sclerotiorum*.

Lo anterior es de importancia para la producción de semilla híbrida de girasol. En efecto la utilización de la línea endocriada HA 89 con otra fuente CMS diferente a la tradicional (*PET-1*) permitiría disminuir la uniformidad citoplasmática y, por consiguiente incrementar la variabilidad entre los híbridos que poseen a dicho genotipo (línea HA 89) como hembra. Sin embargo un trabajo importante de evaluación y selección queda aún por realizar, si se tienen en cuenta las 62 fuentes de androesterilidad disponibles en el girasol cultivado (Serieys, 2002). En este sentido, en nuestra UIB se realizan trabajos a fin de evaluar agronómica, citológica y molecularmente otras fuentes adicionales de androesterilidad -distintas a las utilizadas en este trabajo-, que serían potencialmente aptas a ser usadas en las líneas utilizadas como hembras en los lotes de producción de semilla híbrida (Echeverría *et al.*, 1999).

En la evaluación de los 6 pares de líneas, con citoplasmas androfertil y androesteril CMS *PET-1*, también se detectaron diferencias entre localidades. En efecto, Camet mostró mayor INC que Balcarce (Cuadro 2). Para el PIR las medias ambientales fueron, en cambio, estadísticamente similares.

Los análisis mostraron respuestas diferenciales de los pares de líneas para INC y PIR (Cuadro 2). El comportamiento relativo de los pares de líneas fue similar en las dos localidades dado que su interacción con localidades no fue significativa para ninguna de las dos variables estudiadas.

La comparación múltiple de medias mostró que la línea SD fue la mejor entre los pares de líneas estudiadas. En efecto, dicho material genético fue ubicado en el G2 de mayor resistencia visto que

tuvo el valor mínimo de INC (60%) y el máximo de PIR (1,26). El comportamiento observado para la línea SD es coincidente con lo reportado en trabajos previos (Castaño *et al.*, 1989, 1993, 2001a; Godoy *et al.*, 2005).

La relación entre INC y PIR fue evaluada a partir de los resultados proporcionados por los pares de líneas en cada ambiente. El valor del coeficiente de correlación fue relativamente bajo ($r = -0,38$) pero significativamente ($p = 0,01$) distinto de cero. Las líneas con menor INC fueron las que mostraron más tardíamente sus primeros síntomas. Este resultado no concuerda con lo citado por Castaño *et al.* (1993) y Favere (2000); tanto el tipo de materiales evaluados como las diferencias ambientales podrían ser los causales de dichos resultados disímiles. En nuestro trabajo, la asociación significativa detectada estaría basada en el buen comportamiento de SD a ambas variables, mientras que las otras 5 líneas mostraron en cambio una clasificación independientemente.

Este resultado es de interés al conocimiento de la genética de la resistencia. En efecto, si se tiene en cuenta que la INC y PIR son componentes de la resistencia parcial del girasol a la podredumbre de capítulos (Castaño, 1992; Castaño *et al.*, 1993), dichas variables estarían controladas por grupos de genes independientes en esas líneas que mostraron una relación neutra (GU, CX, Impira 8, U1 y HA 89). En estos materiales y otros que evidencien similares comportamientos, sería necesario evaluar las dos variables a fin de seleccionar por ambas en forma simultánea. En la línea SD, en cambio, es posible que se haya reunido en un mismo genotipo algunos de los QRL (loci que codifican para resistencias cuantitativas) favorables que controlan ambos componentes. Por lo tanto, existe la posibilidad de obtener una descendencia híbrida de buen comportamiento a la podredumbre de capítulo utilizando la línea SD como hembra en el lote de producción de semilla híbrida.

Godoy *et al.* (2005) demostraron que la descendencia que tenía como madre a la línea SD CMS *PET-1* poseía, en promedio, el mejor comportamiento en la serie de 47 combinaciones híbridas.

Estudios posteriores que involucrarán marcadores genéticos ayudarían a detectar la presencia de dichos factores en la línea SD y en su progenie híbrida.

Se detectaron efectos significativos del tipo de citoplasma (normal o CMS *PET-1*) y de su interacción

con localidad para INC, pero no para PIR. Estos resultados sugieren que la INC estaría más afectada por las condiciones en las cuales se desarrolla el experimento lo cual concuerda con lo expresado por Vear (2004) y Serre *et al.* (2004). El PIR sería, en cambio, más independiente de las condiciones ambientales y en consecuencia más dependiente del genotipo.

Si se tiene en cuenta el efecto significativo de los pares de líneas endocriadas, así como de la ausencia de interacción entre dichos pares de líneas y el tipo de citoplasma (normal o CMS *PET-1*), y de ambas con la localidad para las dos variables medidas (Cuadro 2), se puede mencionar que entre las distintas líneas con citoplasma tradicional, se destacó el comportamiento diferencial de SD CMS *PET-1*. Este trabajo mostró, además, que el nivel de resistencia manifestado por los distintos citoplasmas evaluados fue similar; si bien dicho nivel fue estimado a partir de la evaluación de un sólo genotipo (línea HA 89), existiría pues la posibilidad que esa estabilidad del nivel de resistencia se mantenga con otros genotipos distintos a HA 89. En este caso, y de acuerdo a lo mencionado previamente, la utilización de la línea SD con un citoplasma diferente al tradicional (CMS *PET-1*) permitiría avizorar la posibilidad de su utilización como hembra en los cruzamientos para la producción de híbridos de buen comportamiento a la podredumbre blanca de capítulos, con lo cual menguaría la uniformidad citoplasmática en los cultivares de girasol.

En ese marco, la posibilidad de uso de otros CMS diferentes al tradicional (*PET-1*) en la línea SD indicaría además la necesidad de: 1) introducir en las líneas, por retrocruzamientos, los citoplasmas selectos, 2) contar con alguna fuente de restauración de la fertilidad estable, 3) realizar evaluaciones agronómicas y la estabilidad de esos nuevos materiales.

C. Consideraciones finales

Los resultados obtenidos indican que los citoplasmas androestériles diferentes al utilizado en la actualidad (CMS *PET-1*) e introducidos en la línea endocriada HA 89 no muestran mayor nivel de resistencia, pero tampoco más susceptibilidad que dicho genotipo. En ese sentido, las líneas HA 89 CMS *PEF-1*, HA 89 CMS *PET-2* y HA 89 CMS *GIG-1* tuvieron un comportamiento similar a HA 89 CMS

PET-1. Esto es de interés en el mejoramiento genético debido a que indicaría la posibilidad de poder utilizar otros citoplasmas, cuando la línea HA 89 es utilizada como hembra en los cruzamientos para la obtención de semilla híbrida y a los efectos de romper la altísima uniformidad genética existente en los híbridos de girasol actuales referido al tipo de citoplasma. De esta manera, la probabilidad de ocurrencia de enfermedades relacionadas a la herencia materna se vería reducida.

Queda, sin embargo, un trabajo importante a realizar en lo referido a la evaluación de la habilidad combinatoria de las líneas androestériles con el objeto de obtener descendencia híbrida de buen comportamiento a la podredumbre de capítulo.

El hecho de que en el presente trabajo se haya detectado un genotipo (línea SD) con CMS *PET-1* de alto nivel de resistencia indicaría la necesidad de encontrar la combinación más favorable entre genotipo (núcleo) y citoplasma (distinto al tradicional CMS *PET-1*) que permita maximizar la eficiencia de obtención de híbridos de girasol de mejor comportamiento a los ataques de *S. sclerotiorum* en capítulos.

CONCLUSIONES

En 6 líneas endocriadas de girasol (SD, CX, GU, Impira 8, U1, HA89) el CMS *PET-1* redujo la INC, pero no tuvo efecto sobre PIR. Las líneas isoplásmicas androestériles de HA 89 (CMS *PET-2*, CMS *GIG-1*, CMS *PEF-1*) tuvieron el mismo comportamiento que CMS *PET-1* en las dos localidades en las que se evaluó la podredumbre de capítulo. Para INC y PIR no hubo diferencias entre las versiones androesteril y androfertil de la línea HA 89.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue presentado como requisito parcial de la primera autora para optar por el título de Licenciada en Producción Vegetal de la FCA-UNMdP. Las investigaciones fueron financiadas por la UNMdP y el Criadero Monsanto de Argentina así como por la EEA Balcarce-INTA.

BIBLIOGRAFÍA

- AGRIOS, G. 1998. Fitopatología. 2º Ed. Uteha, México.
- AGÜERO, M.; V. PEREYRA; I. SANTALLA and A. ESCANDE. 1997. Effect of sunflower head rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) incidence on yield and acidity. *Phytopathology* 87 (Supplement): S3.
- ÁLVAREZ, M.; F. CASTAÑO and R. RODRÍGUEZ. 1999. Evaluation of *Sclerotinia sclerotiorum* infection of sunflower hybrids. *Annals of Applied Biology* 134 (Suplemento): 46-47.
- CASTAÑO, F. 1992. Étude génétique de la résistance au *Sclerotinia sclerotiorum* chez le tournesol (*Helianthus annuus* L.). Tesis Doctoral ENSA Rennes.
- CASTAÑO, F. and R. RODRÍGUEZ. 1997. A simple technique to produce ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. En: International Sunflower Yearbook 1997-98, ISA (Ed.), p 77.
- CASTAÑO, F.; F. VEAR et D. TOURVIEILLE. 1989. L'utilisation de plusieurs tests simultanés dans la sélection pour la résistance du tournesol vis-à-vis de *Sclerotinia sclerotiorum*. *Informations Techniques CETIOM* 107: 14-20.
- CASTAÑO, F.; F. VEAR and D. TOURVIEILLE. 1993. Resistance of sunflower inbred lines to various forms of attack by *Sclerotinia sclerotiorum* and relations with some morphological characters. *Euphytica* 68: 85-98.
- CASTAÑO, F.; F. VEAR and D. TOURVIEILLE. 2001a. The genetics of resistance in sunflower capitula to *Sclerotinia sclerotiorum* measured by mycelium infections combined with ascospore tests. *Euphytica* 122: 373-380.
- CASTAÑO, F.; F. VEAR and D. TOURVIEILLE. 2001b. Horizontal resistances in sunflower: a review of a workshop at the 15th International Sunflower Conference. *OCL* 8:211-215.
- CETIOM (Ed.). 1992. La culture du tournesol. PROLEA-CETIOM, Paris.
- ECHEVERRÍA, M.; F. CASTAÑO; T. SALABERRY y R. RODRÍGUEZ. 1999. Comportamiento en el girasol del citoplasma RES-1 frente a la podredumbre de capítulo. En: Actas, XXIX Congreso Argentino de Genética, Rosario, Sociedad Argentina de Genética. p. 420.
- FAVERE, V. 2000. Evaluación de una nueva metodología de inoculación en capítulos de girasol para valorar la resistencia a *Sclerotinia sclerotiorum*. Trabajo Final de Graduación. FCA/UNMdP. 47 p.
- FICK, G. 1975. Heritability of oil content in sunflowers. *Crop Science* 15: 77-78.
- FICK, G. 1978. Breeding and genetics. En: Sunflower Science and Technology. ASA, CSSA, SSSA, Madison. J. Carter (Ed). 279-338.
- GODOY, M. 2001. Heterosis y habilidad combinatoria de líneas endocriadas de girasol para la resistencia a *Sclerotinia sclerotiorum* en capítulos. Trabajo Final de Magister Scientiae, UNMdP-INTA, Balcarce. 147 p.
- GODOY, M.; F. CASTAÑO; J. RÉ and R. RODRÍGUEZ. 2005. *Sclerotinia* resistance in sunflower. I. Genotypic variations of hybrids in three environments of Argentina. *Euphytica* 145: 147-154.
- LECLERCQ, P. 1969. Une stérilité mâle cytoplasmique chez le tournesol. *Annales de l'Amélioration des Plantes* 19: 99-106.
- MAGAICH, B.; M. UPAGHYA; O. PRAKASH and S. SING. 1968. Cytoplasmically determined expression of symptoms of potato virus X in crosses between species of *Capsicum*. *Nature* 220: 1341-1342.
- MERCADO, A. and M. LANTICAN. 1961. The susceptibility of cytoplasmic male sterile lines of corn to *Helminthosporium maydis* Nisik. and Miyake. *Phillipine Agriculturist* 45: 235-243.
- MILLER, J. and G. FICK. 1997. The genetics of sunflower. En: Sunflower Technology and Production. ASA, CSSA, SSSA, Madison. A. Schneiter (Ed). 441-495.
- MILLET, M. and M. PINTHUS. 1980. Genotypic effects of the maternal tissue of wheat on its grain weight. *Theoretical and Applied Genetics* 58: 247-252.
- PEREYRA, V.; M. BAZZALO y C. SALA. 1991. Variabilidad y estabilidad entre híbridos comerciales de girasol para la resistencia a la podredumbre del capítulo causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. En: Trabajos Presentados, Evolución, 1º Reunión Nacional de Oleaginosos, Rosario, 10-11/10/91, pp. 354-359.
- PROMOSOL. 1989. Évaluation des pools issus du Programme Population Source 2 (PPS 2). Groupement pour l'étude et l'amélioration du tournesol, GIE Protournesol. 70 p.
- RUSSI, D.; F. CASTAÑO; J. RÉ; R. RODRÍGUEZ and C. SEQUEIRA. 2004. New considerations on white rot genetic resistance. En: Proceedings of the 16th International Sunflower Conference, ISA-NSA (Eds), Fargo, USA. Vol. 2, pp. 609-614.

- SCHENEITER, A. and J. MILLER. 1981. Description of sunflower growth stages. *Crop. Science* 21: 901-903.
- SERIEYS, H. 2002. Progress report 1999-2001 of the FAO working group. Identification, study and utilization in breeding programs of new CMS sources. *En: FAO Technical Meeting on Sunflower, Proceedings of the 10th FAO Consultation on Sunflower Subnetwork, Montpellier, October 7-9, 2002.*
- SERRE, F.; P. WALSER; D. TOURVIEILLE and F. VEAR. 2004. *Sclerotinia sclerotiorum* capitulum resistance tests using ascospores: results over the period 1991-2003. *En: Proceedings of the 16th International Sunflower Conference, ISA-NSA (Eds), Fargo, USA. Vol.1, pp.129-133.*
- STEEL, R. y J. TORRIE. 1988. Bioestadística: Principios y procedimientos. MacGraw-Hill, México. 622 p.
- TOURVIEILLE, D. et F. VEAR. 1984. Comparaison de méthodes d'estimation de la résistance du tournesol au *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. *Agronomie* 4: 517-525.
- USDA. 2004. Agricultural statistics. *En: http://www.usda.gov/nass/pubs/agr04/04_ch3.pdf (revisado en Marzo 2005).*
- VEAR, F. 2004. Breeding for durable resistance to the main diseases in sunflower. *En: Proceedings of the 16th International Sunflower Conference, ISA-NSA (Eds), Fargo, USA. Vol.1, pp.15-28.*
- VEAR, F.; M. PHAM-DELEGUE; D. TOURVIEILLE; R. MARILLEAU; Y. LOUBLIER; M. LE METAYER; P. DOUAULT and J. PHILLIPON. 1990. Genetical studies of nectar and pollen production in sunflower. *Agronomie* 10: 219-231.